

KERTI MÁLYVARÓZSA (*ALCEA ROSEA* L.) FAJTÁK GENETIKAI UJJLENYOMATABERKI ZITA¹, SZABÓ MÁRIA², †PEDRYC ANDRZEJ¹, GYÖRGY ZSUZSANNA¹¹Szent István Egyetem, Kertészettudományi Kar, Genetika és Növénytermesztés Tanszék²NAIK Gyümölcsstermesztési Kutatóintézet, Érdi Kutató ÁllomásKULCSSZAVAK: *Alcea rosea*, ISSR, fajtaazonosság

Munkánk során az *Alcea rosea* 'Balaton' és 'Spring Celebrities' nevű fajtacsoportjainak kapcsolatára szeretnénk volna választ kapni. Az előzetes összehasonlító kísérlet során a morfológiai bélyegeket, életformát és fenotípust tanulmányozva, a szaporítóanyag megjelenésén kívül nem volt észlelhető olyan eltérés, amely alapján megkülönböztethetők lettek volna a két fajtacsoport azonos színű egyedei. A molekuláris markerekkel végzett vizsgálat során ISSR technikát alkalmaztunk. Az alkalmazott módszerrel olyan fajtákra jellemző fragmentumok megjelenését tapasztaltuk, amelyek lehetővé tették a két fajtasorozat azonosságának kizárását. A gélekpeken látott eredmények táblázatban való összefoglalása után lehetővé vált a fajta-összehasonlítás páronként. Eredményeinket a PAST program segítségével elvégzett főkoordináta-elemzéssel és dendrogramon is szemléltettük. Mindkettő jól mutatja, hogy szoros kapcsolat van (80% feletti hasonlóság) a két csoport tagjai között. Végeredményben arra a megállapításra jutottunk, hogy a két sorozat nem egyezik egymással DNS-szinten. A fenotípusos egyezés és a polimorf lokuszok alacsony száma arra enged következtetni, hogy szoros rokoni kapcsolatban állnak. Elképzelhető, hogy azonos alapanyagból indultak ki a nemesítők, vagy a korábbi, 'Balaton' nevű fajtasorozat alapanyagként szolgált a későbbi 'Spring celebrities' sorozat nemesítési munkái során.

BEVEZETÉS ÉS IRODALMI ÁTTEKINTÉS

Az *Alcea rosea* L., magyar nevén kerti mályvarózsa, egy ma Magyarországon vadon nem előforduló kerti dísznövény (RÁCZ et al., 1984). Valószínűleg az *Alcea biennis*-ből származó kultúrfaj, amely néha kivadul (KIRÁLY, 2009). Más források szerint kelet-mediterrán eredetű dísznövény (SÓO és JÁVORKA, 1951). A fajon belül egyes változatait gyógynövényként tartják számon, pl: *Alcea rosea* var. *nigra* (NÉMETH, 1993). A kertekben ültetett mályvák között létezik egyházi és kétnyári, a gyógynövényként termesztett változat pedig évelő lágyszárú növény (SCHMIDT, 2002; NÉMETH, 1993). Az alapfaj 150-200 cm magas, halványlila színű virágokat hozó növény. Nem-elágazó szárral és mélyre hatoló karógyökérrel rendelkezik, 5 karéjú levelei kerekdedek. Virágai nagyok, átmérőjük 30 mm körül van, majdnem üldök, végálló füzért alkotnak. Júniustól októberig virágzik (RÁCZ et al., 1984). A faj a *Malvales* rendbe, azon belül pedig a *Malvaceae* családba tartozik. Ezen a családon belül további öt alcsaládba sorolták a rokon fajokat. A faj a *Malvoideae* alcsalád tagja. Közeleli rokona az *Alcea biennis* Winterl., amelytől a szíromlevél hosszában és formájában tér el (KIRÁLY, 2009). Nemesítésével Európában először Kováts Zoltán foglalkozott, akinek célja a díszkertekben és közterületeken való alkalmazhatóság, tehát a növény méretének törpe alkatúvá alakítása, illetve a virágzatok tömöttebbé formálása volt. 1957 és 1975 között nemesítette a 'Balaton' fajtasorozatot, amelynek megjelenése megfelel a támasztott követelményeknek (KOVÁTS feljegyzései). A 'Balaton' fajtacsoport egy törpe növekedésű, 60 cm magas, fajhibridizációs módszerrel nemesített, 6 elismert fajtával rendelkező sorozat, amelyet az *Alcea rosea* (annua) és az *Alcea biennis* Winterl. keresztezésével állított elő Kováts Zoltán. Az első fajta 1957-ben kapott állami elismerést. A fajtasorozat 1971-ben az All America Selection elismerését is elnyerte. Az akkori politikai helyzet miatt a sorozat szaporítóanyagának európai forgalmazását csak külföldről lehetett megoldani, így került a magok terjesztése előbb a Sluis & Groot, majd később a Hem-Zaden, illetve az Ohlsens Encke nevű cégek kezébe (SZABÓ szóbeli közlés, 2015).

A 'Spring Celebrities' nevű *Alcea rosea* fajtasorozat 2012-ben került a piacra a japán Takii cég forgalmazásában. Érdeklőség, hogy 2007-ben a japán cég terjeszkedés céljából egyesült azzal a társasággal, amelyik korábban Kováts Zoltán fajtáinak a forgalmazását intézte (Takii Seed, 2015). A két fajtasorozat tagjai nagyon hasonlóan egymásra és mindkettő fogékony a mályvafélék fő betegségére, a mályvarozsdára (SZABÓ szóbeli közlés, 2015).

A NAIK Gyümölcsstermesztési Kutatóintézetében elvégezték egy összehasonlító kísérletet a magyar 'Balaton' fajtasorozat és a japán 'Spring celebrities' fajtasorozat fajtáival. A két fajtasorozat összes tagjának magjait azonos időpontban és megegyező körülmények között elvetették, és a növényeket felnevelték. A kísérlet teljes időtartama

alatt a két fajtasorozat fenntartása ugyanolyan körülmények között történt. Különbőség a mag alakjától eltekintve sem a csíranövényen, sem a palántán, valamint a kifejtett növényen sem volt észlelhető (SZABÓ szóbeli közlés, 2015).

Munkánk célja a Kováts Zoltán által nemesített 'Balaton' fajtasorozat és a Takii cég 'Spring Celebrities' fajtasorozatának összehasonlítása volt molekuláris markerekkel, annak érdekében, hogy kiderüljön, van-e kapcsolat (esetleg azonosság) a két fajtasorozat között.

ANYAG ÉS MÓDSZER

A vizsgált növényanyagot a NAIK Gyümölcsstermesztési Kutatóintézet Érdi Kutató Állomásáról kaptuk. A DNS kivonásához 3-4 lombleveles állapotban gyűjtöttünk leveleket, illetve szikleveleket minden fajta esetében 10-10 növényegyről, majd további felhasználásig lefagyasztottuk őket.

A DNS-t az E.Z.N.A. SP Plant Mini Kit (Omega, VWR International Kft.) segítségével izoláltuk és a hozzá rendelt protokollt követtük. A kivont DNS mennyiségét NanoDrop (Bioscience, Budapest) készülékkel, minőségét 1%-os TBE agarózgélben ellenőriztük.

A vizsgálat elvégzéséhez a British Columbia Egyetemen leirt, ISSR (ZIETKIEWICZ et al., 1994) vizsgálatokhoz kifejlesztett primerek közül választottunk 15 db-ot (The Michael Smith Laboratories, University Of British Columbia, primer set 9, Vancouver, BC, Kanada), amelyeket az 1. táblázatban ismertetünk. A PCR reakcióelegy térfogata 15 µl volt, amely 20-50 ng DNS-t, 10x PCR reakció puffert, 1,5 mM MgCl₂, 0,02 mM dNTP mix, 2,5 mM primert, valamint 0,5 egység DreamTaq DNS polimerázt (Fermentas, Szeged, Magyarország) és steril desztillált vizet tartalmazott. A PCR-hez SwiftTM MaxPro (Esco Micro Pte. Csrtex, Budapest) típusú PCR-készüléket alkalmaztunk a következő hőmérsékleti profillal: elődenaturáció 94 °C 4 percig, majd 40 cikluson át 94 °C 60 másodpercig, 49 °C 90 másodpercig, majd 72 °C 90 másodpercig, és egy végső lánchosszabbítás 72 °C-on 7 percig. A PCR-termékek jelenlétét 1%-os (w/v) etidium-bromiddal festett agarózgélben, 1xTBE pufferben xilencianol festékkel ellenőriztük. A minták elemzéshez a PCR-termékeket 2 órán át 120 V-on választottuk szét, majd értékeljük a gélek mintázatát. Az értékelés alapján prezencia/abszencia típusú táblázatot készítettünk. Az adott méretnél jelenlévő fragmentumokat 1-essel, a hiányzókat 0-val jelöltük. Az adatokat MS Excel táblázatban összesítettük. Az Excelben páronként összehasonlítottuk a 2 fajtakör azonos színárnyalatait képviselő mintákat.

AZ ALKALMAZOTT PRIMEREK AZ ÁLTALUK AMPLIFIKÁLT FRAGMENTUMOK SZÁMÁVAL, A POLIMORF FRAGMENTUMOK SZÁMÁVAL ÉS EZEK SZÁZALÉKOS ARÁNYÁVAL

1. táblázat

ALKALMAZOTT PRIMER	ÖSSZES AMPLIFIKÁLÓDOTT FRAGMENTUM SZÁMA	POLIMORF FRAGMENTUMOK SZÁMA	POLIMORF LÖKUSZOK %-A
807	8	6	75
808	10	5	50
811	11	3	27
812	8	2	25
817	7	6	86
825	3	0	0
826	7	4	57
840	9	3	33
841	1	0	0
842	8	5	62,5
861	4	1	25
873	6	5	83
887	10	10	100
888	11	7	64
889	3	0	0

CELKA és munkatársai (2010) ISSR molekuláris markereket használtak nyolc *Malva* taxon genetikai kapcsolatának megvizsgálására, amelyek megerősítették a korábbi ITS alapú vizsgálatok eredményét. Más fajok esetén is alkalmaztak domináns molekuláris markereket a fajtaazonosság vagy különbség bizonyítására. Például Argentínában ESCANDÓN és munkatársai 2007-ben ISSR és AFLP markereket használtak új *Nierembergia linariaefolia* fajták molekuláris azonosítására. A genetikai ujjlenyomat vizsgálatához tizenhárom ISSR és hat AFLP primert alkalmaztak. Kínai kutatók huszonnégy szegfűfajtának vizsgálták a genetikai variabilitását ISSR módszerrel, valamint összehasonlították a morfológiai és genetikai markerekkel történő megkülönböztetés eredményességét (FU et al., 2008).

Eredményeink összefoglalásaként elmondhatjuk, hogy a 'Spring Celebrities' és a 'Balaton' fajtasorozatok DNS-szinten nem egyeznek meg, ugyanakkor szoros kapcsolatot találtunk közöttük. Elképzelhető, hogy vagy ugyanazt a kiindulási anyagot használták a keresztezések során, vagy a későbbi 'Spring Celebrities' sorozatnak a kiindulási alapanyaga lehetett a 'Balaton' fajtasorozat.

GENETIC FINGERPRINT OF COMMON HOLLYHOCK (*ALCEA ROSEA* L.) CULTIVARS

BERKI, Z.¹, SZABÓ, M.², †PEDRYC, A.¹, GYÖRGY, ZS.¹

¹Szent István University, Faculty of Horticultural Science, Department of Genetics and Plant Breeding

²NARIC Fruitculture Research Institute, Research Station of Érd

KEYWORDS: *Alcea rosea*, ISSR, cultivar, cultivargroup

SUMMARY

Alcea rosea is a traditional ornamental plant in Hungarian gardens. This species is also popular in Germany and in the Far-East. During our research we studied two cultivars of *Alcea rosea*; the 'Balaton' and the 'Spring Celebrities' with molecular markers. The members of the series 'Balaton' were bred by Zoltán Kovács in the middle of the 20th century, while the series 'Spring Celebrities' was released in 2012 by TAKII Seed.

In a preliminary comparison, the growth form, phenotype and morphological characteristics were examined in the two cultivars. No differences were found that would have accounted for the differentiation between cultivars of the same colour, with the exception of the appearance of the seeds. For the DNA fingerprinting of the studied cultivars, the ISSR method was chosen. With 12 ISSR markers we were able to preclude the sameness of the two *Alcea rosea* cultivars. The ISSR fragments were separated using a 1% agarose gel. The results were summarized in a binary MS Excel table. The cultivars of the same colour were compared in pairs. The PAST program was used to illustrate the results in a dendrogram and for principal coordinate analysis as well. The dendrogram revealed a high similarity (more than 80%) between the studied cultivars. Also, in the PCO figure the cultivars grouped tightly together.

As a result, we can conclude that the two *Alcea rosea* cultivars are not the same at the level of DNA. However, the identity of the phenotype and the low number of the polymorphic allows us to deduce that the studied cultivars are closely related. These results raise the possibility that the 'Balaton' series was used as breeding material for the 'Spring Celebrities' series or, alternately, breeding of the two cultivars began from the same germplasm.

TABLES AND FIGURES

TABLE 1. Primers used in the study, number of amplified fragments, number of polymorph fragments and percentage of polymorph fragments.

FIGURE 1. Principal co-ordinate analysis based on the ISSR results. The labelling „DKI” refers to the 'Balaton' cultivars, while the labelling „Sc” refers to the 'Spring Celebrities' cultivars.

FIGURE 2. Dendrogram of the studied cultivars based on the ISSR results. The labelling „DKI” refers to the 'Balaton' cultivars, while the labelling „Sc” refers to the 'Spring Celebrities' cultivars.

IRODALOMJEGYZÉK

- CELKA, Z., SZCZEINSKA, M., SAWCKI, J. (2010): Genetic relationships between some of *Malva* species as determined with ISSR and ISJ markers. *Biodiversity: Research and Conservation* 19: 23-32.
- ESCANDÓN, A.S., ZELENER, N., PÉREZ DE LA TORRE, M., SOTO, S. (2007): Molecular identification of new varieties of *Nierembergia linariaefolia* (Graham), a native Argentinean ornamental plant. *Journal of Applied Genetics* 48 (2): 115-123.
- FU, X., NING, G.G., BAO, M. (2008): Genetic diversity of *Dianthus* accessions as assessed using two molecular marker systems (SRAPs and ISSRs) and morphological traits. *Scientia Horticulturae* 117: 263-270.
- ESCOBAR GARCÍA, P., SCHÖNSWETTER, P., FUERTES AGUILAR, J., NIETO FELINER, G., SCHNEEWEISS, G.M. (2009): Five molecular markers reveal extensive morphological homoplasy and reticulate evolution in the *Malva* alliance (*Malvaceae*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 50: 226-239.
- HAMMAERO, HARPER, D. A. T., RYAN, P. D. (2001): PAST Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Paleontologia Electronica*. 4 (1): 9.
- JOSHI, S.P., GUPTA, V.S., AGGARWAL, R.K., RANJEKAR, P.K., BRAR, D.S. (2000): Genetic diversity and phylogenetic relationship as revealed by inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism in the genus *Oryza*. *Theoretical and Applied Genetics* 100: 1311-1320.
- KAZEMI, M., ARAN, M., ZAMANI, S. (2011): Evaluation of genetic diversity of Iranian wild *Alcea rosea* population using RAPD. *World Applied Sciences Journal* 13: 1234-1239.
- KIRÁLY, G. (szerk.) (2009): Új magyar fűvészkönyv. Magyarország hajtásos növényei. Határozókulcsok – Aggteleki Nemzeti Park Igazgatóság, Jászvölgy p. 283.
- NÉMETH É. (1993): *Alcea rosea* var. *nigra* – Fekete mályvarózsa. In: BERNÁTH J. (szerk.) Vadontermő és termesztett gyógynövények. Budapest. Mezőgazda Kiadó Kft. 134-136.
- RÁCZ, G., RÁCZ-KOTILLA, E., LAZA, A. (1984): Gyógynövényismeret. Ceres Könyvkiadó, Budapest, 99-100.
- SANTOS, L.F., OLIVIERA, E.J., SANTOS SILVA, A., CARVALHO, F.M., LELES COSTA, J., GOMES PÁDUA, J. (2011): ISSR Markers as a Tool for the Assessment of Genetic Diversity in *Passiflora*. *Biochemical Genetics*, 49 (7-8): 40-54.
- SCHMIDT, G. (2002): Növényházi dísznövények termesztése. Budapest. Mezőgazda Kiadó Kft. pp. 575-576.
- SOÓ, R., JÁVORKA, S. (1951): A Magyar növényvilág kézikönyve I., Akadémiai Kiadó, Budapest, 452.
- SZCZECINSKA, M., SAWICKI, J., WASOWICZ, K., HOLDYNSKY, C. (2009): Genetikai variáció a relikv és veszélyeztetett populációkban *Chamaedaphne calyculata* (Ericaceae). *Poland-Dendrobiology*, 62: 23-33.
- WANG, L.L., LI-PING, Z., YI-QIN, G., MING-XIA, W., LI-MING, C., JIN-LAN, Y., YAN, W., FAN-MIN, Y., LONG-ZHI, W. (2007): DNA fingerprinting and genetic diversity analysis of late-bolting radish cultivars with RAPD, ISSR and SRAP markers. *Scientia Horticulturae*, 116: 240-247.
- YE, Y.M., ZHANG, J.W., NING, G.G., BAO, M.Z. (2008): A comparative analysis of the genetic diversity between inbred lines of *Zinnia elegans* using morphological traits and RAPD and ISSR markers. *Scientia Horticulturae*, 118: 1-7.
- ZIETKIEWICZ, E., RAFALSKI, A., LABUDA, D. (1994): Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction. *Genomics*, 20: 176-183.
- <http://www.takii.eu/ws/?tekst=About%20Takii%20Europe> (2015. 06. 09.)